

PCT

ORGANISATION MONDIALE DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
Bureau international



24

DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<p>(51) Classification internationale des brevets <sup>5</sup> : <b>C07H 21/00, A61K 31/70</b></p>	<p><b>A1</b></p>	<p>(11) Numéro de publication internationale: <b>WO 93/12131</b> (43) Date de publication internationale: 24 juin 1993 (24.06.93)</p>
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR92/01173 (22) Date de dépôt international: 11 décembre 1992 (11.12.92) (30) Données relatives à la priorité: 91/15421 12 décembre 1991 (12.12.91) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 15, quai Anatole-France, F-75007 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : IMBACH, Jean-Louis [FR/FR]; 1108, rue de la Sorbes, F-34080 Montpellier (FR). GOSSELIN, Gilles [FR/FR]; Résidence Barque-des-Arceaux, Bâtiment FE 1, 83, rue Calvin, F-34080 Montpellier (FR).</p>		<p>(74) Mandataire: WARCOIN, Jacques; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR). (81) Etats désignés: CA, JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>
<p>(54) Title: 2',3'-DIDEOXY-3'-AMINOTHYIMIDINE DERIVATIVES, METHOD FOR PREPARING SAME, AND THERAPEUTICAL USES THEREOF (54) Titre: DERIVES DE 2',3'-DIDESOXY-3'-AMINOTHYIMIDINE, LEUR PREPARATION ET LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE</p> <div style="text-align: center; margin: 20px 0;"> <math display="block">  \begin{array}{c}  \text{RO} \quad \text{O} - \text{aminodT} \\  \diagdown \quad \diagup \\  \text{P} \\  \diagup \quad \diagdown \\  \text{O} \quad \text{O} - \text{aminodT}  \end{array}  \quad (I)  </math> </div> <p>(57) Abstract 2',3'-dideoxy-3'-amino-thymidine derivatives of formula (I), wherein R is NH<sub>4</sub><sup>+</sup> or HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>; and therapeutical uses thereof. (57) Abrégé Dérivés de 2',3'-didesoxy-3'-aminothymidine répondant à la formule (I) dans laquelle R est NH<sub>4</sub><sup>+</sup> ou HO(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-S-S-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>. Application thérapeutique.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	MR	Mauritanie
AU	Australie	GA	Gabon	MW	Malawi
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	NL	Pays-Bas
BE	Belgique	GN	Guinée	NO	Norvège
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	NZ	Nouvelle-Zélande
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	PL	Pologne
BJ	Bénin	IE	Irlande	PT	Portugal
BR	Brésil	IT	Italie	RO	Roumanie
CA	Canada	JP	Japon	RU	Fédération de Russie
CF	République Centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SK	République slovaque
CI	Côte d'Ivoire	LJ	Liechtenstein	SN	Sénégal
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	SU	Union soviétique
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TG	Togo
DE	Allemagne	MG	Madagascar	UA	Ukraine
DK	Danemark	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
ES	Espagne	MN	Mongolie	VN	Viet Nam
FI	Finlande				

## DERIVES DE 2',3'-DIDESOXY-3'-AMINOTHYIMIDINE,

## LEUR PREPARATION ET LEUR APPLICATION EN THERAPEUTIQUE

La présente invention a pour objet des dérivés de 2',3'-didésoxy-3'-aminothymidine (ou amino-dT), leur

5 préparation et leur application en thérapeutique.

Les composés de l'invention répondent à la formule donnée en annexe 1 dans laquelle

R est  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{-S-S-}(\text{CH}_2)_2\text{-}$ .

La préparation des composés de l'invention est indiquée  
10 ci-après.

Les chromatographies sur couche mince ont été réalisées sur plaques de silice Merck 60F 254 (art.5554). Les chromatographies sur colonne de gel de silice ont été effectuées avec de la silice Merck 60 H (art. 7736) ou avec de la silice  
15 silanisée RP2 Merck (art. 7719).

Les analyses CLPH ont été effectuées sur colonne Waters Radial-Pak (diam.: 8 mm, l : 100 mm)  $\text{C}_{18}$  de granulométrie sphérique de 10  $\mu\text{m}$ . Cette colonne est protégée par une précolonne Guard-Pak. Le système CLHP est composé d'un injecteur  
20  $\text{U}_6\text{K}$ , de deux pompes M-6000 A, d'un programmeur M-720 (Waters), d'un détecteur UV multicanal Pye Unicam PU 4021 et d'un centre de contrôle vidéo PU 4850 (Philipps). L'élution a été réalisée avec une solution d'acétonitrile dans un tampon d'acétate d'ammonium 0,1 M (pH 5,9) à un débit de 2 ml par  
25 minute (TR temps de rétention).

Les purifications CLHP ont été effectuées sur colonne SFCC Nucléosil (diam.: 19 mm, l : 150 mm) de granulométrie sphérique de 10  $\mu\text{m}$ . Le système CLHP est composé d'un injecteur  $\text{U}_6\text{K}$ , de deux pompes M-510 EF, d'un programmeur M-720,  
30 d'un détecteur UV M-481 et d'un enregistreur Data Module 746 (Waters). L'élution est réalisée avec une solution d'acétonitrile dans l'eau à un débit de 6,25 ml par minute.

Avant analyse, purification CLHP ou lyophilisation, les solutions ont été filtrées sur filtre Millex HV-4  
35 (Millipore).

Les spectres UV ont été enregistrés sur un spectrophotomètre UVIKON 810.

Les spectres de masse ont été pris sur un appareil JEOL JMS

DX 300 par la méthode d'ionisation FAB dans une matrice d'glycérol (G), glycérol/thioglycérol (GT) ou d'alcool 3-nitrobenzylique (NBA).

Les spectres RMN du proton ont été enregistrés sur un  
5 appareil Varian EM 360 ou sur appareil Brüker AC 250.  
Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal du tétraméthylsilane (TMS).

La multiplicité et l'allure des signaux observés par RMN sont indiquées par une (ou plusieurs) lettre(s) : s (singulet), d  
10 (doublet), t (triplet), m (multiplet), l (large).

Les spectres RMN du phosphore ont été enregistrés sur un appareil Brüker WP 200 SY avec découplage du proton.

Les déplacements chimiques sont exprimés en ppm par rapport au signal de  $H_3PO_4$  pris comme référence externe.

15

5'-O-Tertiobutyldiméthylsilyl 3'-amino 2',3'-didésoxythymidine 2.

A une solution de 8,35 g (34,6 mmol.) de 3'-amino-2',3'-di-  
20 désoxythymidine 1 dans 250 ml de pyridine sont ajoutés 6,26 g (41,5 mmol.) de chlorure de tertiobutyldiméthylsilyle. La réaction est laissée 24 h. Le mélange est dilué avec du  $CH_2Cl_2$ , lavé avec une solution aqueuse de  $NaHCO_3$  puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur  $Na_2SO_4$  et concentrée.  
25 L'huile obtenue est chromatographiée sur gel de silice (éluant MeOH (0-10%) dans  $CH_2Cl_2$ ) pour conduire à 11,8 g (96%) de 2 sous forme de mousse.

2UV (EtOH) : max 266 nm ( $\epsilon$  10600)

30 min 233 nm ( $\epsilon$  1700)

SM (FAB positif, GT) : 711  $(2M+H)^+$ , 356  $(M+H)^+$ , 127  $(BH_2)^+$

RMN<sup>1</sup>H (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  = 0,07 (s, 6H,  $(CH_3)_2Si$ ) ; 0,88 (s, 9H,  $(CH_3)_3CSi$ ) ; 1,77 (s, 3H,  $CH_3$ ) ; 2,03 (m, 2H, H-2',2'') ; 3,38 (m, 1H, H-3') ; 3,58 (m, 1H, H-4') ; 3,72 (dd, 1H, H-5', J =  
35 3,9 et 10,4 Hz) ; 3,83 (dd, 1H, H-5'', J = 2,8 et 10,4 Hz) ; 6,11 (t, 1H, H-1', J = 6,2 Hz), 7,48 (s, 1H, H-6) ppm.

5'-O-Tertiobutyldiméthylsilyl 3'-(N-(4-méthoxytrityl)-amino)

2',3'-didésoxythymidine 3.

Le composé 2 (11,7 g ; 32,9 mmol.) est traité par 15,2 g (49,2 mmol.) de chlorure de 4-méthoxytrityle dans 295 ml de pyridine durant 20 h. Le mélange est repris avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (1%  $\text{Et}_3\text{N}$ ), lavé avec une solution aqueuse de  $\text{NaHCO}_3$  puis à l'eau. La phase organique est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , évaporée et coévaporée avec du toluène. Une purification sur colonne de gel de silice (éluant : MeOH (0-3%),  $\text{Et}_3\text{N}$  (1%) dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) conduit à 17,5 g (85%) de 3 sous forme de mousse.

10

3UV (EtOH) :  $\lambda$  max 266 nm ( $\epsilon$  11300)

$\lambda$  min 254 nm ( $\epsilon$  10200)

$\lambda$  inflex 232 nm ( $\epsilon$  15800)

- 15 SM (FAB positif, GT) : 628 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>, 127 ( $\text{BH}_2$ )<sup>+</sup>  
 RMN<sup>1</sup>H (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  = -0,08 et -0,04 (s et s, 3H et 3H,  $(\text{CH}_3)_2\text{Si}$ ) ; 0,79 (s, 9H,  $(\text{CH}_3)_3\text{CSi}$ ) ; 1,10-1,37 (m, 2H, H-2',2'') ; 1,69 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 3,17 (m, 1H, H-3') ; 3,50 (m, 2H, H-4', NH) ; 3,70 (m, 1H, H-5') ; 3,71 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OTr}$ ) ;  
 20 3,85 (m, 1H, H-5'') ; 6,09 (t, 1H, H-1' ; J = 6,9 Hz) ; 6,82-7,47 (m, 14H, Tr), 7,20 (s, 1H, H-6) ppm.

3'-(N-(4-Méthoxytrityl)-amino) 2',3'-didésoxythymidine 4.

Le traitement de 17,4 g (27,7 mmol.) de 3 par 83 ml (91 mmol.) d'une solution 1,1 M de fluorure de tétrabutylammonium dans le THF conduit à 10,2 g (72%) de 4 après évaporation du solvant et 4 chromatographies sur colonne de gel de silice (éluant : MeOH (0-15%),  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,5%) dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) pour chasser les sels de butylammonium.

30

4UV (EtOH) :  $\lambda$  max 265 nm ( $\epsilon$  9900)

$\lambda$  min 255 nm ( $\epsilon$  8600)

$\lambda$  inflex 231 nm ( $\epsilon$  14000)

SM (FAB positif, GT) : 514 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup>, 127 ( $\text{BH}_2$ )<sup>+</sup>

- 35 RMN<sup>1</sup>H (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  = 1,02-1,19 (m, 1H, H-2') ; 1,19-1,37 (m, 1H, H-2'') ; 1,68 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 2,8 (sl, 1H, NH) ; 3,19 (m, 1H, H-3') ; 3,44 (m, 1H, H-5') ; 3,64 (m, 1H, H-5'') ; 3,71 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{O}$ ) ; 3,72 (m, 1H, H-4') ; 4,90 (t, 1H, OH, J = 4,8 Hz) ; 5,97 (t, 1H, H-1', J = 6,5 Hz) ; 6,81-7,55 (m, 14H,

Tr) ; 7,55 (s, 1H, H-6) ; 11,2 (sl, 1H, NHCO) ppm.

O-(3'-(N-(4-méthoxytrityl)-amino) 2',3'-didésoxy-  
5 thymidin-5'-yl)-hydrogénophosphonate 5.

Une solution de 6,65 g (97,7 mmol.) d'imidazole dans 69 ml d'acétonitrile est traitée à 0°C par 2,60 ml (29,8 mmol.) de trichlorure de phosphore et 15,3 ml (110 mmol.) de triéthylamine durant 30'. Ce mélange est additionné à 5,12 g (9,99  
10 mmol.) de 4 dans 69 ml d'acétonitrile. La phosphorylation est laissée 7 h puis 5 ml d'eau sont additionnés. La solution est alors concentrée sous pression réduite, reprise avec une solution de bicarbonate de triéthylammonium et extraite avec  
15 du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La phase organique est lavée à l'eau, séchée sur sulfate de sodium et évaporée. Le brut est purifié sur colonne de gel de silice (éluant : MeOH (0-20%), Et<sub>3</sub>N (0,05%) dans CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) pour conduire à 5,1 g (75%) de 5.

5UV (EtOH) : λ max 265 nm (ε 8700)

20 λ min 254 nm (ε 7600)

λ inflex 231 nm (ε 12300)

SM (FAB négatif, GT) : 576 (M)<sup>-</sup>

RMN<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) : δ = 1,00-1,50 (m, 2H, H-2',2''), 1,18 (t, 9H, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N, J = 7,3 Hz) ; 1,75 (s, 3H, CH<sub>3</sub>) ; 3,04  
25 (quadruplet, 6H, (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N, J = 7,3 Hz), 3,21 (m, 1H, H-3') ; 3,60-3,95 (m, 3H, H-4',5',5'') ; 3,72 (s, 3H, CH<sub>3</sub>OTr) ; 6,00 (t, 1H, H-1', J = 6,3 Hz) ; 6,61 (d, 1H, HP, J = 585 Hz) ; 6,80-7,55 (m, 14H, Tr) ; 7,66 (s, 1H, H-6) ; 10,5 (sl, 1H, NH) ; 10,8 (sl, 1H, NH) ppm  
30 RMN<sup>31</sup>P (DMSO-d<sub>6</sub>) : δ = 2,055 ppm.

O-O'-bis (3'-N-(4-méthoxytrityl)-amino) 2',3'-didésoxy-  
thymidin-5'-yl)-phosphate 6.

35 Au mélange de 2,19 g (3,23 mmol.) d'hydrogénophosphonate 5 et de 1,49 g (2,90 mmol.) du nucléoside 4 dans 42 ml de pyridine sont ajoutés 1,20 ml (9,74 mmol.) de chlorure de pivaloyle. Après 2 h de réaction, le milieu est dilué avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavé avec une solution aqueuse de NaHCO<sub>3</sub> puis à l'eau. La

phase organique est séché sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrée et coévaporée avec du toluène. Le brut est repris avec 82 ml d'une solution d'iode à 2% dans le mélange pyridine, eau (98:2). Après 30', le milieu réactionnel est dilué avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  contenant 1% de  $\text{Et}_3\text{N}$  et avec une solution aqueuse de  $\text{NaHCO}_3$ , puis est traité avec une solution aqueuse de thiosulfate de sodium jusqu'à disparition de la coloration due à l'iode. La phase organique est séparée, lavée avec de l'eau, séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , concentrée et coévaporée au toluène. Le diester 6 (2,27 g, 66%) est obtenu après chromatographie sur colonne de gel de silice (éluant : MeOH (0-10%),  $\text{Et}_3\text{N}$  (0,5%) dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).

6UV (EtOH) :  $\lambda$  max 265 nm ( $\epsilon$  12300)  
15  $\lambda$  min 254 nm ( $\epsilon$  9200)  
 $\lambda$  inflex 231 nm ( $\epsilon$  15300)  
SM (FAB. négatif, GT) : 1088 (M)<sup>-</sup>, 816 (MH-MTr)<sup>-</sup>  
RMN<sup>1</sup>H (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  = 1,08-1,50 (m, 2H, H-2', 2'') ; 1,19 (t, 9H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$ , J = 7,3 Hz) ; 1,75 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 3,05 (quadruplet, 6H,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_3\text{N}$ , J = 7,3 Hz) ; 3,20 (m, 1H, H-3') ;  $\approx$  3,4 (m, H-4' masqué par l'eau) ; 3,70 (s, 3H,  $\text{CH}_3\text{OTr}$ ) ; 3,78 (m, 2H, H-5', 5'') ; 6,04 (t, 1H, H-1', J = 6,1 Hz) ; 6,80-7,52 (m, 14H, Tr) ; 10,3 (sl, 1H, NH) ; 10,9 (sl, 1H, NH) ppm  
25 RMN<sup>31</sup>P (DMSO- $d_6$ ) :  $\delta$  = -1,126 ppm.

O,O'-bis(3'-amino-2',3'-didésoxythymidin-5'-yl) phosphate (sel d'ammonium) 7 (composé 1).

30 Le composé 6 (300 mg, 0,252 mmol.) est déprotégé par réaction avec 7,6 ml d'une solution à 2% d'acide benzène sulfonique dans le méthanol pendant 2 h. L'acide est neutralisé par addition d'une solution aqueuse de bicarbonate de triéthylammonium. La phase aqueuse est extraite avec du  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  puis concentrée sous pression réduite. Le résidu obtenu est chromatographié 2 fois sur couche mince de gel de silice (éluant : ammoniac (10%), eau (10%) dans l'isopropanol) pour conduire, après filtration sur filtre Millipor et lyophilisation dans l'eau, à 41 mg (31%) du diester 7 sous

forme de sel d'ammonium.

7CLHP : TR : 510 s (99, 4%) (5% CH<sub>3</sub>CH/Ac ONH<sub>4</sub> 0,1M)

UV (H<sub>2</sub>O) :  $\lambda$  max 266 nm ( $\epsilon$  15000)

5  $\lambda$  min 235 nm ( $\epsilon$  4000)

SM (FAB négatif, GT) : 543 (M)<sup>-</sup>; (FAB positif, GT) : 589

(M+2Na)<sup>+</sup>, 567 (MH+Na)<sup>+</sup>, 545 (M+2H)<sup>+</sup>

RMN<sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  = 1,77 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>) ; 2,00-2,29 (m, 4H, 2H-2', 2'') ; 3,46 (m, 2H, 2H-3') ; 3,70 (m, 2H, 2H-4') ; 3,92

10 (m, 4H, 2H-5', 5'') ; 6,07 (t, 2H, 2H-1', J = 5,4 Hz) ; 7,64

(s, 2H, 2H-6) ppm

RMN<sup>31</sup>P (DMSO-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  = -0,627 ppm.

15 O,O'-bis(3'-amino-2',3'-didésoxythymidin-5'-yl) O-(S-(2-hydroxyéthylsulfidyl) 2-thioéthyl) phosphate 8 (composé 2).

Un mélange de 300 mg (0,252 mmol.) de diester 6, de 315 mg (2,52 mmol.) de 4-méthoxypyridine N-oxyde et de 1,07 g (2,51 mmol.) de O-mono-(4-méthoxytrityl) dithiodiéthanol (préparé

20 par réaction d'un grand excès de dithiodiéthanol avec du chlorure de 4-méthoxytrityle) en solution dans 63 ml de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> est traité avec 373 mg (1,26 mmol.) de 1-(2-mésitylène-sulfonyl) 3-nitro 1,2,4-triazole. Après 3 h de réaction, le milieu réactionnel est dilué avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, lavé avec une

25 solution aqueuse de NaHCO<sub>3</sub> puis avec de l'eau. La phase organique est séchée sur Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, concentrée et coévaporée au toluène. Le brut est directement déprotégé par réaction avec 7,5 ml d'une solution à 2% d'acide benzène sulfonique dans le MeOH en 2 h. L'acide est neutralisé par addition d'une solu-

30 tion 1 M de bicarbonate de triéthylammonium. La phase aqueuse est lavée avec du CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> et concentrée sous pression réduite.

Le brut obtenu est purifié par CLHP semi préparative (colonne nucléosil C<sub>18</sub>, éluant : 12% CH<sub>3</sub>CN dans une solution 0,05 M d'acétate de triéthylammonium). Les fractions appropriées

35 sont évaporées et lyophilisées 4 fois dans l'eau. Après filtration, sur filtre Millipore, une dernière lyophilisation donne 50 mg (25%) d triester 8 associé à deux mol'cules d'acide acétique.

BCLHP : TR 320s (94% ; Z : 4%) (15% CH<sub>3</sub>CN/AcONH<sub>4</sub> 0,1 M)

UV (H<sub>2</sub>O) :  $\lambda$  max 265 nm ( $\epsilon$  15700)

$\lambda$  min 234 nm ( $\epsilon$  4100)

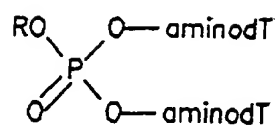
SM (FAB positif, GT) : 681 (M+H)<sup>+</sup>, 545 (M-(OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S)<sub>2</sub>+ H)<sup>+</sup>

5 RMN<sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>) :  $\delta$  = 1,78 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>) ; 1,89 (s, 6H, 2CH<sub>3</sub>COO<sup>-</sup>) ; 1,95-2,19 (m, 4H, 2H-2',2'') ; 2,77 (t, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, J = 6,4 Hz) ; 2,96 (t, 2H, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OP, J = 6,5 Hz) ; 3,40 (m, 2H, 2H-3') ; 3,59 (t, 2H, (CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)OH, J = 6,4 Hz) ; 3,71 (m, 2H, 2H-4') ; 4,10-4,22 (m, 6H, 2H-5',5'', CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OP) ;

10 6,14 (dd, 2H, 2H-1', J = 5,7 et 6,7 Hz) ; 7,47 et 7,46 (s et s, 2H, 2H-6) ppm

RMN<sup>31</sup>P (DMSO-*d*<sub>6</sub>, D<sub>2</sub>O) :  $\delta$  = -0,504 ppm.

## TABLEAU



Composé	R
1	$\text{NH}_4^+$
2	$\text{HO}-(\text{CH}_2)_2\text{-S-S-}(\text{CH}_2)_2\text{-}$

Les composés de l'invention ont été soumis à des essais pharmacologiques montrant leur intérêt dans le traitement de maladies virales.

5 - Evaluation de l'activité anti VIH 1 dans les cellules MT4

MT4 = cellule T humaine transformée par HTLV1

HTLV = human T lymphotropic virus.

La multiplication du VIH-1 (souche HTLV IIIB) dans les cellules MT4 est suivie par l'effet cytopathogène induit par le virus.

Les cellules sont infectées avec une dose de VIH-1 produisant après 5 jours une diminution de 90 % du nombre de cellules vivantes.

Les composés testés sont ajoutés, après l'adsorption du virus, dans le milieu de culture à différentes concentrations. La concentration la plus élevée utilisée est  $10^{-4}$  M. La viabilité des cellules est mesurée par une réaction colorimétrique basée sur leur capacité à réduire le bromure de 3-(4,5 diméthylthiazol-2-yl)-2,5 diphényl-tetrazolium en formazan, propriété due aux déshydrogénases mitochondriales. La quantité de formazan produit est appréciée par la mesure de la D.O. à 540 nm : cette D.O. est proportionnelle au nombre de cellules vivantes.

Le pourcentage de protection des cellules infectées par le traitement avec les composés est calculé en appliquant la formule proposée par Pauwels et col.

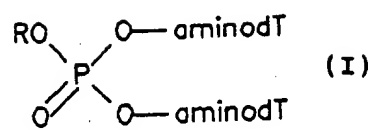
D.O. 540 des cellules infectées traitées	D.O. 540 des cellules infectées non traitées
<hr/>	
D.O. 540 des cellules non infectées	D.O. 540 des cellules infectées non traitées

Les composés de l'invention présentent une activité anti VIH.

L'effet toxique des composés sur les cellules MT4 non infectées est mesuré par la même réaction colorimétrique. La dose cytotoxique 50 % (CD50) est la concentration de composé provoquant une diminution de moitié de la D.O. 540 par

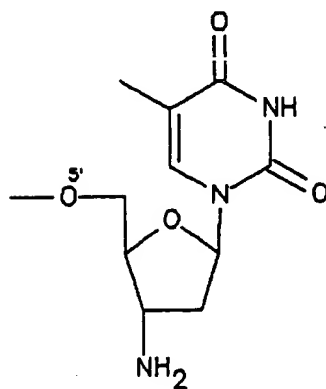
rapport à celle des cellules témoins.

ANNEXE 1



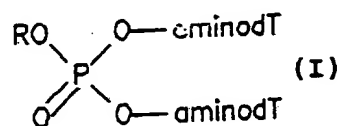
-O-aminodT

=



1. Dérivés de 2',3'-didesoxy-3'-amino-thymidine répondant à la formule

5



dans laquelle

R est  $\text{NH}_4^+$  ou  $\text{HO}(\text{CH}_2)_2\text{-S-S-}(\text{CH}_2)_2^-$ .

10

2. Médicament contenant un dérivé selon la revendication 1.
3. Composition pharmaceutique contenant un dérivé selon la revendication 1 en association avec tout excipient
- 15 pharmaceutique acceptable.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/FR 92/01173

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl. 5 C07H21/00; A61K31/70

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl. 5 C07H ; A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FEBS LETTERS. Vol. 232, No. 1, 1988, AMSTERDAM NL pages 153 - 155 N.I.SOKOLOVA ET AL. ' Chemical Reactions within DNA Duplexes Cyanogen Bromide as an Effective Pligodeoxyribonucleotide Coupling Agent' *the whole document, especially p. 153, column 2, line 10, ACGGATnh2	1-3
A	WO, A, 9 006 319 (SCHERING CORPORATION) 14 June 1990 see the whole document	1-3
A	EP, A, 0 284 405 (BAKER CUMMINS PHARMACEUTICALS INC) 28 September 1988 see the whole document	1-3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&amp;" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

09 March 1993 (09.03.93)

Date of mailing of the international search report

24 March 1993 (24.03.93)

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office  
Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT  
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

FR 9201173  
SA 69100

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report.  
The members are as contained in the European Patent Office EDP file on  
The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information. 09/03/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-9006319	14-06-90	AU-A- 4667189	26-06-90
		EP-A- 0375183	27-06-90
EP-A-0284405	28-09-88	AU-B- 604105	06-12-90
		AU-A- 1375888	29-09-88
		JP-A- 64003197	06-01-89

## RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

PCT/FR 92/01173

Demande Internationale No

<b>I. CLASSEMENT DE L'INVENTION</b> (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) <sup>7</sup>		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB <sup>8</sup>		
CIB 5 C07H21/00; A61K31/70		
<b>II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b>		
Documentation minimale consultée <sup>9</sup>		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB 5	C07H ; A61K	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté <sup>9</sup>		
<b>III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b> <sup>10</sup>		
Catégorie <sup>11</sup>	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, <sup>12</sup> des passages pertinents <sup>13</sup>	No. des revendications visées <sup>14</sup>
A	FEBS LETTERS. vol. 232, no. 1, 1988, AMSTERDAM NL pages 153 - 155 N.I.SOKOLOVA ET AL. 'Chemical Reactions within DNA Duplexes Cyanogen Bromide as an Effective Oligodeoxyribonucleotide Coupling Agent' *the whole document, especially p.153, column 2, line 10, ACGGATnh2 ---	1-3
A	WO,A,9 006 319 (SCHERING CORPORATION) 14 Juin 1990 voir le document en entier ---	1-3
A	EP,A,0 284 405 (BAKER CUMMINS PHARMACEUTICALS INC) 28 Septembre 1988 voir le document en entier -----	1-3
<p><sup>11</sup> Catégories spéciales de documents cités:</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"I" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>"T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
<b>IV. CERTIFICATION</b>		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
09 MARS 1993		24.03.93
Administration chargée de la recherche internationale		Signature du fonctionnaire autorisé
OFFICE EUR PEEN DES BREVETS		SCOTT J.R.

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE  
RELATIF À LA DEMANDE INTERNATIONALE NO.**

FR 9201173  
SA 69100

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche internationale visé ci-dessus.  
Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du  
Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

09/03/93

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO-A-9006319	14-06-90	AU-A- 4667189	26-06-90
		EP-A- 0375183	27-06-90
-----			
EP-A-0284405	28-09-88	AU-B- 604105	06-12-90
		AU-A- 1375888	29-09-88
		JP-A- 64003197	06-01-89
-----			

EPO FORM P0072

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82